

枳實에 의한 免疫글로블린 E 生成의 抑制效果

金炯均·權龍澤*

ABSTRACT

Inhibitory Effect of Immunoglobulin E Production by *Poncirus trifoliata*

Kim Hyeong Kyun · Kweon Yong Taek*

* Dept. of Internal Medicine, School of Oriental Medicine

Won kwang University, Iksan, Korea

Poncirus trifoliata (L.) Raf (Rutaceae) fruits (PTFE) has been used for the treatment of allergic disease.

IgE is normally one of the least abundant immunoglobulin (Ig) isotypes in the serum of both humans and several species of experimental animals; however a number of different stimuli can result in profound increases in IgE levels relative to other isotypes. In rodents, infection with many parasitic helminths can cause approximately 100-fold elevation in IgE within 2 wks. Immunization of mice with small amounts of protein antigens on alum also results in 10-fold to 50-fold increase in total serum IgE, much of it specific for the immunizing antigen. In this experiment, I investigated the effect of an aqueous extract of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf (Rutaceae) fruits (PTFE) on a in vivo and in vitro IgE production. PTFE dose-dependently inhibited the serum levels of IgE induced by antigens. The regulation of IgE synthesis is influenced by T cells and T cell derived factors. IL-4, a T cell-derived cytokine, has been shown to stimulate murine IgE synthesis both in vitro and in vivo.

Current evidence suggests that IL-4 induces IgE synthesis in the mouse by stimulating H chain

* 원광대학교 전주한방병원 통증클리닉

※ 이 논문은 '98년도 원광대학교 교내연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.

isotype switch. Lipopolysaccharide (LPS) plus IL-4 cause about 100-fold increase in IgE secretion by murine B cells. The effects of PTFE on the IL-4-dependent IgE response by mouse whole spleen cells were studied. Whole spleen cells were cultured for 7 days in the presence of LPS plus IL-4 and PTFE and the supernatants were assayed for IgE. IL-4 dependent IgE production of LPS-stimulated whole spleen cells was inhibited by PTFE.

Moreover, in the present study using U266B1 human IgE-bearing B cells, I found that PTFE inhibited the production of IgE activated by LPS plus IL-4.

These results indicate that PTFE have antiallergic activity by inhibition of IgE production from B cells.

Key Word : *Poncirus trifoliata*, allergic disease, IgE, IL-4, lipopolysaccharide (LPS), antiallergic activity

1. 緒 論

枳實은 芸香(Rutaceae)科에 속하는 常綠小喬木인 椗나무, 당굴나무 혹은 탕자나무의 未成熟한 幼果로서¹⁻⁴⁾. <神農本草經>⁵⁾에 “治大風皮膚中如麻豆苦痒”이라하여 최초로 언급되었으며, 性味는 苦寒^{1-3,6)}하여 破氣散積, 行痰消痞, 下氣通便 등의 效能^{1-3,6,7)}이 있어, 胸痞, 胃脘痛, 嘔逆, 喘咳, 食滯 등에 응용되었고, 임상적으로는 急性氣管支炎, 喘息, 胃腸病으로 야기된 皮膚疾患, 皮膚搔痒症 및 anaphylatic shock 등을 치료하는데 사용되어 왔다.^{1-4,6-15)}

枳實의 약리작용은 동물실험에서 심혈관계의 작용으로 枳實煎湯液이 혈압을 높이고, 심장의 관상동맥이나 뇌에 혈류를 증가 시키고^{4,6,9,10,16-18)}, 위장평활근에 대해 연동작용을 높이며 수축 운동을 규칙적이고 강력하게 하며, 진경작용이 있고^{4,6,9,10,16,19)}, 자궁에 대하여는 자궁근의 흥분, 수축력과 긴장도를 증가시키며^{4,9,10,16)}, 최근에는 항알레르기 작용이 보고 되어 있다^{16,20-22)}. 또한, 민간에서도 알레르기 질환의 치료에 이용되고 있다¹⁵⁾.

알레르기란 생체의 변화된 반응이라는 뜻으로, 항원과의 접촉에 의한 조직의 과민반응을 일으키는 것으로서, 발생기전에 따라 몇 가지 형태로

분류된다^{23,24)}.

그 중 I형 알레르기는 비만세포와 호염기구의 탈과립 현상의 유발에 의한 아나필락시(anaphylaxis)를 일으키거나, 두드러기, 기관지천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 등을 일으킨다. 특히 I형 알레르기의 하나인 아나필락시는 무방어란 뜻으로 항원자극에 의하여 감작된 생체가 일정기간 후에 동일한 항원과 접촉했을 때 수십분 내에 급격히 증상을 나타내는 현상이다²⁴⁻²⁶⁾. 알레르기 반응의 원인은 비만세포와 호산구와 같은 세포에서 면역글로블린 E (immunoglobulin E, IgE) 매개성 약리학적 과정으로 일어나는 것으로 알려져 있다^{27,28)}.

근년, 전세계적으로 알레르기 질환의 증가가 보고되고 있으며 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 및 음식물 알레르기와 같은 알레르기 질환이 선진 문명국에서 전체 인구의 20%를 상회하고 매년 증가하고 있는 것으로 보고되고 있다²⁹⁾. 우리나라에서도 최근 건강한 서울 시민을 대상으로 조사한 알레르기 소인율은 41%나 된다고 보고되고 있을 정도로³⁰⁾ 알레르기 질환이 증가하고 있어서, 한약에 의한 항알레르기 약물의 개발이 시급한 실정이다.

최근에는 枳實의 항알레르기 작용에 대한 연구

로 朱²¹⁾는 枳實 水抽出液이 혈중 histamine의 유리를 억제시키며 아나필락시 반응을 현저히 억제한다고 보고하였고 黃²²⁾은 枳實 水抽出液이 세포질의 대표적인 매개물인 histamine Ca²⁺의 방출을 현저히 억제하였고 cAMP의 방출을 현저하게 증가시켰음을 보고하여 枳實이 아나필락시 및 알레르기 연관질환의 예방 및 치료에 유용하리라 보고하였다. 따라서 실험적으로 枳實이 혈중 histamine 유리의 억제와 histamine Ca²⁺의 방출을 억제하며, cAMP의 방출을 증가시켜 알레르기 질환에 유효하리라는 보고는 있으나 枳實의 IgE 생성억제 효과에 관한 연구는 보고된 바가 없다.

이에 저자는 임상에서 알레르기 질환에 이용되고 있으며 실험적으로 histamine 억제효과가 보고된 枳實의 효능을 관찰하기 위하여 I형 알레르기에 있어 중요한 역할을 한다고 알려진 IgE의 생성억제에 미치는 枳實의 영향을 생쥐의 脾臟細胞 및 인간의 B세포주를 통하여 생체내외적 실험한 바 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗 材料

(1) 실험동물

BALB/c계 및 ICR계 실험동물쥐 (8-12 주령)를 대한실험동물센터 (음성, 충북)에서 구입하여 사용하였다.

2) 시약

재조합 murine IL-4 (10⁷ U/mg), IL-5 (10⁷ U/mg)는 R & D Systems (Minneapolis, MN)에서 구입하였다. lipopolysaccharide (LPS), avidin-peroxidase, bovine serum albumin (BSA) 및 Bordetella pertussis vaccine은 Sigma Chemical Co. (St Louis, IL)에서 구입하였다. 재조합 IgE,

항IgE, biotinylated 항IgE는 PharmMingen (Sandiego, CA)에서 구입하였다.

(3) 인체 U266B1 세포

U266B1 세포는 American Type Culture Collection (Rockville, MD)에서 구입하였다.

(4) 실험약물의 조제

枳實은 원광대학교 전주한방병원에서 구입하였다. 枳實水浸液은 적량의 증류수를 넣고 70°C에서 5시간동안 추출하여 얻었다. 水浸液은 0.45 μm 여과지로 여과한 다음 냉동건조하여 -20°C에 보관한 다음 사용전 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

2. 實驗 方法

(1) Immunization

수컷 ICR계 생쥐에 Bordetella pertussis vaccine (2 × 10⁹/mouse), ovalbumin (500 μg/mouse) 및 alum (1 mg/mouse)을 혼합하여 복강내 주사하였다. 항원주사 2주후에 심장으로 부터 혈액을 얻어 원심분리 (1500 × g, 15분, 4°C)하여 혈청을 분리하여 IgE양을 측정하였다.

(2) 생쥐 脾臟細胞의 분리

암컷 BALB/c계 생쥐를 chloroform으로 마취시킨 후 脾臟을 꺼내어 단세포로 만든 다음 0.155 M NH₄Cl-10 mM KHCO₃-0.1 mM EDTA 2Na (pH 7.5) 용액에서 적혈구를 용해시켰다. RPMI 1640 및 10% 우태아 혈청을 함유한 배양액으로 3회 처리한 다음 trypan blue 염색에 의해 90% 이상의 활성도를 확인한 脾臟細胞를 얻었다.

(3) 세포배양

脾臟細胞 및 U266B1 세포를 2 × 10⁶ cells/ml로 하여 4-well plate에서 배양하였다. 최종농도

가 LPS는 4 µg/ml, IL-4는 100 U/ml가 되도록 하여 자극하였다. 배양은 37°C, 5% CO₂ 존재하에서 7일동안 하였다.

(4) IgE의 정량

IgE의 정량은 captured goat monoclonal antibody to mouse IgE와 biotine이 결합된 goat monoclonal antibody to mouse IgE (Phar-Mingen, USA)의 결합에 의해 측정되는 biotine/avidine sandwich ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 방법을 사용하였다.³¹⁾ 즉 Anti-IgE-capture mAb (2 µg/ml)를 0.1 M NaHCO₃ (pH = 8.2) coating buffer로 희석하여 96-well flat bottomed plate에 넣고 4°C에서 12시간 코팅하였다. PBS/0.05% Tween 20 (washing buffer)으로 3회 세척하고, 비특이적 결합부위를 막기 위하여 PBS/3% BSA를 첨가하여 37°C에서 1시간동안 blocking시켰다. 다시 washing buffer로 3회 세척한 다음 purified mouse anti-DNP IgE antibody 표준액과 각 sample을

100 µl씩 well에 첨가하여 37°C에서 1시간동안 배양하였다. Washing buffer로 4회 세척한 후 PBS/1% BSA로 희석한 biotinylated anti-IgE detecting mAb (2 µg/ml)를 넣은 다음 37°C에서 2시간동안 배양하였다. Washing buffer로 5회 세척한 후 PBS/1% BSA로 희석한 avidineperoxidase (1/400)를 넣은 뒤, 15분 방치후 발색정도를 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 기질로서 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)를 사용하였다.

(5) IgE 생성의 억제율

IgE 생성의 억제백분율은 다음 식으로 계산했다.

$$\text{억제율 (\%)} = \frac{(\text{약물을 부가하지 않았을 때 IgE 양} - \text{약물을 부가했을 때 IgE 양})}{\text{약물을 부가하지 않았을 때 IgE 양}} \times 100$$

(6) 통계학적 분석

모든 결과는 means ± S.E.로 나타내었으며,

Table 1. Inhibitory effect of PTFE by oral administration on antigens-induced IgE production in vivo

| Treatment (µg/g) | Dose (ng/ml) | Antigens (%) | Concentration of IgE | Inhibition |
|------------------|--------------|--------------|----------------------|------------|
| None(Saline) | - | - | 44.2 ± 6.58 | - |
| | - | + | 550.0 ± 9.04 | - |
| PTFE | 1 | + | 539.4 ± 8.71 | 2.0 |
| | 25 | + | 538.7 ± 7.62 | 2.2 |
| | 50 | + | 516.6 ± 8.65 | 6.2 |
| | 100 | + | 498.6 ± 12.44 | 9.5 |
| | 250 | + | 479.3 ± 7.92 | 12.9 |
| | 500 | + | 250.4 ± 2.45* | 54.5 |
| | 1000 | + | 232.7 ± 3.42* | 57.7 |

Mixture of antigens was given intraperitoneally to the group of mice. Saline or drug was administered orally every day (n = 10). Each concentrations of IgE represents the mean ± S. E. of three independent experiments. *P < 0.05; significantly different from the saline value.

Student's *t*-test로 실험군간을 통계학적으로 비교했다.

III. 實驗 成績

1. 능동적으로 면역한 생쥐에 枳實水浸液의 경구투여에 의한 IgE 생성의 억제 효과

저자는 먼저 '실험방법'에 기술한 방법으로 200 μ l의 항원을 생쥐 복강내 주사하여 면역시켰다. 枳實水浸液은 면역시킨 직후부터 매일 구강내 2주일동안 투여하여 혈청중 IgE 생성에 미치는 효과를 실험하였다. 구강내 枳實水浸液의 투여에 의해 생쥐 혈청중 IgE의 수준이 용량의존적으로 낮아졌다 (Table 1). 특히 枳實水浸液 500, 1000 μ g/g의 농도에서는 그 효과가 현저하였다 ($P < 0.05$).

2. 능동적으로 면역한 생쥐에 枳實水浸液의 복강내 주사 투여에 의한 IgE 생성의 억제 효과

이번에는 항원으로 면역시킨후 대조군으로 생리식염수와 실험군으로 枳實水浸液을 복강내에 매일 투여하여 IgE 생성의 억제효과를 실험하였다. Table 2에 나타난 것처럼 枳實水浸液의 투여는 생체내에서 IgE 생성량을 현저히 억제시켰다 ($P < 0.05$). 枳實水浸液에 의한 생체내에서 IgE 생성의 억제 효과는 복강내 투여했을 경우가 구강내 투여했을 때보다 더욱 효과적이었다.

3. 생쥐 脾臟細胞로 부터 IgE 생성에 있어서 IL-4의 용량 의존적 효과

생쥐 脾臟細胞로 부터 IgE 생성에 있어서 IL-4의 효과를 실험하기 위하여 다양한 농도의

Table 2. Inhibitory effect of PTFE by intraperitoneal administration on antigens-induced IgE production in vivo

| Treatment (μ g/g) | Dose (ng/ml) | Antigens Concentration (%) | Concentration of IgE | Inhibition |
|------------------------|--------------|----------------------------|----------------------|------------|
| None (Saline) | - | - | 37.01 \pm 8.72 | - |
| - + | 540.71 | \pm | 10.42 - | |
| PTFE | 1 | + | 538.65 \pm 9.82 | 0.4 |
| | 25 | + | 518.44 \pm 12.68 | 4.1 |
| | 50 | + | 491.86 \pm 17.54 | 9.0 |
| | 100 | + | 490.81 \pm 19.30 | 9.2 |
| | 250 | + | 456.23 \pm 21.07* | 15.6 |
| | 500 | + | 147.80 \pm 1.33* | 72.6 |
| | 1000 | + | 153.07 \pm 2.16* | 71.7 |

Mixture of antigens was given intraperitoneally to the group of mice. Saline or drug was administered intraperitoneally every day (n = 10). Each concentrations of IgE represents the mean \pm S. E. of three independent experiments. * $P < 0.05$; significantly different from the saline value.

IL-4 존재하에서 배양하였다. Fig. 1에 보인 바와 같이 脾臟細胞에서 IL-4의 처리에 의해 용량 의존적으로 IgE의 생성량이 증가하였다. 10^2 U/ml 이상의 IL-4 농도에서 IgE 생성을 현저히 자극했다. 대조군으로 실험한 IL-5 처리의 경우에는 IgE 생성을 오히려 억제하는 경향을 나타내어 IgE 생성에 영향을 미치지 못하였다. 또한 Coffman 등³²⁾은 LPS에 의해 활성화된 B세포는 IL-4의 부가로 IgE 생성이 증가됨을 보고했다. 따라서 저자는 IgE의 생성에 있어서 LPS와 IL-4의 효과를 실험했다. 생쥐 脾臟細胞에 LPS와 IL-4를 同時 處理했을 때 IgE 생성량은 IL-4 단독처리시보다 더욱 증가하였다 (Fig. 2).

4. 생쥐 脾臟細胞에 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4의 동시 처리에 의한 고농도의 IgE 생성시 枳實水浸液의 효과

LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4를 동시 처리한 다음 枳實水浸液을 부가하여 脾臟細胞로부터 IgE 생성에 미치는 영향을 실험하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 枳實水浸液은 각각의 모든 조건에서 IgE 생성을 현저히 억제하였다 ($P < 0.05$).

5. 枳實水浸液의 생쥐 肥脾細胞 증식에 미치는 영향

枳實水浸液이 생쥐 脾臟細胞의 증식에 미치는 영향을 Fig. 4에 나타냈다. LPS의 존재하에서는 7일 동안 脾臟細胞의 배양으로 세포수가 약간 증가하였으나, LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4의 존재하에서 枳實水浸液 (1000 μ g/ml)의 처리에 의해 세포수에는 영향을 미치지 못하였다.

6. 인간 B세포주에 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4의 동시 처리한 다음 枳實水浸液 부가에 의한 IgE 생성의 억제 효과

마지막으로 枳實水浸液이 인간 B세포주의 자극에 의한 IgE 생성량에 미치는 영향을 실험했다. 枳實水浸液은 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4를 처리한 인간 B세포주에서도 모두 IgE 생성을 현저히 억제시켰다 (Fig. 5). 이와 같은 결과는 枳實水浸液이 인체에서도 B세포로부터 IgE 생성을 억제할 수 있는 것을 의미한다.

IV. 考 察

알레르기란 어떤 항원에 의해 감작된 개체가 동일한 항원이 재도입 되었을 때 항원-항체 결합으로 인한 과민면역반응을 말한다^{23,24,33}. 알레르기는 Coombs와 Gell에 의해 발생기전에 따라 I-IV형으로 분류되었고, 여기에 다시 Roitt가 V형을 추가하였다^{23,24,33}. 그 중 I형은 肥脾細胞표면에 부착되어 있는 IgE와 항원이 반응하여 肥脾細胞 탈과립현상을 유발시켜 histamine이나 serotonin, slow reactive substance-anaphylaxis (SRS-A), platelet activating factor (PAF), trypase, kininogenase, prostaglandin2(PGD2)와 같은 화학 전달물질이 유리된다^{25,33,34}. 이러한 화학 전달물질은 平滑筋收縮, 粘膜炎腫, 粘液分泌, 血管透過性亢進, 血管擴張을 일으켜 氣管支喘息, 알레르기성 비염, 아토피성 皮膚炎, 蕁麻疹 등의 질환을 일으킨다^{25,33}. IgE는 I형 알레르기 반응에 있어 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌는데 분자량은 20만으로, 정상인의 혈청 1ml중에 IgE가 100-400ng 정도를 차지하며 IgG의 농도보다 10^5 배 정도 적어 전체 면역글로블린의 0-0.001%미만을 구성한다^{25,36}. IgE생성을 조절하는데 있어서 Th2형 T세포와 肥脾細胞에서 분비되는 IL-4가 결정적인 역할을 하고 있는 것은 분명하다³⁷⁻³⁹. 그러나 IgE의 과생성을 유도하는 직접적인 Th2세포의 분화인자 혹은 점막표면에서 알레르기 반응이 집중적으로 일어나는 원인에 대해서는 거의 밝혀지지 않고 있다. 생리적인 상황하에서 항원

특이적 B세포는 표면면역글로블린 수용체를 경유하여 활성화된 다음에 항원 특이적 Th세포의 영향으로 항체생성세포인 형질세포로 分化한다⁴⁰⁾. 최근 표면면역글로블린을 경유한 활성화된 B세포에서 IL-4가 IgE class switching을 유도하는 것이 증명되었다⁴¹⁾. 또한, IL-4는 고농도의 lipopolysaccharide(LPS)로 자극될 때 murin B세포로부터 IgE class switching을 유도한다³²⁾.

일찍이 東洋醫學에서는 巢⁴²⁾의 <巢氏諸病源候論>에 알레르기과 유사한 내용이 나타나 있는데 “漆有毒 人有稟性畏漆 但見漆便中其毒……亦有性自耐者 終日燒煮 竟不爲害也”라고하여 옷에 대한過敏反應과體質差異를 언급하였다.

枳實은 芸香(산초)科 Rutaceae에 속하는 常綠小喬木인 광귤나무<酸橙, Citrus aurantium L.> 혹은 당귤나무<橘橙 C.sinensis Osbeck>, 탕자나무<枸橘, Poncirus tripoliata(L.)RAF>의 未成熟한 幼果이며¹⁻⁴⁾, 異名으로는 只實, 陳枳殼, 商枳殼, 江枳實, 粘刺, 洞庭, 破胸槌등이 있다^{2,3,6,43,44)}. 性味는 苦寒^{1-3,6)}, 苦辛微寒⁴²⁾, 苦酸微寒^{4,10,11)}, 苦酸寒⁷⁾, 苦微寒⁹⁾등으로 대부분 苦寒으로 나타나며 <神農本草經>⁵⁾에 최초로 收錄되었다. 枳實은 破氣散積, 行氣消痞, 下氣通便, 利胸膈, 逐水, 除寒熱結 등의 효능이 있어 咳嗽, 嘔逆, 子宮下垂, 脫肛, 腹痛 등의 主治를 가지며^{1-4,6-9,11-13)}, 임상적으로는 急性氣管支炎, 喘息, 胃腸病으로 야기된 皮膚疾患, 皮膚瘙癢症, anaphylactic shock 등을 치료한다^{1-4,6-13,43)}. 한편, 성분으로는 주로 d-limonene, d-linalool 등의 精油가 약 0.3-0.5%, poncirin, hesperidin, neohesperidin, rhoifolin, naringin, aurantiamarin, auranthin, 5-Hydroxyauratin, 5-O-Desmethylnobiletin 등의 flavonoid와 syneprine, N-methylamine 등이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다^{1,3,6,9,10,14,16,43,44)}.

枳實의 약리작용은 동물실험에서 심혈관계통의 작용으로 혈압을 상승시키고, 腎容積을 감소시키며, 저농도에서는 두꺼비에서 유리한 심장의 수

축을 높여 관상동맥이나 뇌, 신장에 혈류량을 증가시키며^{4,6,9,10,16,18)}, 위장평활근에 대해 흥분과 수축운동을 규칙적이고 강력하게 하며, 진경작용이 있어 복통 등을 완하시키는데 장의 평활근에 직접 작용하며^{4,6,9,10,16,45)}, 자궁에 대하여는 자궁근의 흥분, 수축력과 긴장도를 증가시키며^{4,9,10,45)}, 항알레르기 작용도 있다고 보고되었다^{20-22,45)}. 최근에는 朱²¹⁾와 黃²²⁾은 각각 枳實 水抽出液이 혈중 histamine의 유리를 억제시키고, 세포질의 대표적인 매개물인 histamine Ca²⁺의 방출을 현저히 억제하여 cAMP의 방출을 현저하게 증가시켜 枳實이 아나필락시 및 알레르기 연관질환의 예방 및 치료에 유용하리라 보고하였다.

이상의 문헌적, 실험적 보고로 보면 枳實이 다양한 약리작용을 나타내고 있으나, 저자는 喘息, 알레르기등 I형 알레르기와 연관성이 있는 질환에 枳實이 사용되고 있다는데 관심을 갖게 되었다. 또한, 저자는 枳實의 항알레르기 반응에 있어 histamine 유리억제에 관한 연구는 보고되었으나, I형 알레르기 작용에 있어 가장 중요한 역할을 담당하는 IgE생성 억제에 미치는 영향에 대한 연구가 보고되지 않아 免疫學的 刺戟에 의해 실험동물쥐의 혈청중 IgE의 용량을 측정하였다.

본 실험에서는 枳實의 항알레르기 효과를 알아보기 위하여 생쥐를 면역 시킨후 생쥐의 脾臟細胞 및 인간 B세포주에서 IgE 생성을 용량의존적으로 억제시키는 것을 증명하였다.

枳實의 다양한 투여경로에 의한 실험결과를 살펴보면 능동적으로 면역한 생쥐에 枳實水浸液의 경구투여에 의한 혈청중 IgE 생성의 수준이 용량의존적으로 낮아졌다. 특히, 枳實水浸液 500, 1000 µg/g의 농도에서는 그 효과가 현저했다(Table 1).

枳實水浸液의 복강내 주사투여에 의한 생체내에서의 IgE 생성량을 현저히 억제시켰다(Table 2). 또한, 枳實水浸液에 의한 생체내에서 IgE 생성의 억제효과는 복강내 투여했을 경우가 구강내 투여했을 때보다 더욱 효과적이었다.

이러한 결과는 枳實水浸液이 능동적으로 면역한 생쥐의 혈청중 IgE 생성량을 현저히 억제하는 것으로 보아 IgE 생성억제를 통한 알레르기 질환의 치료에 이용될수 있을 것으로 思料되며, 특히 다양한 투여경로에 의해서 IgE 생성억제 효과의 차이는 枳實水浸液의 吸收率 및 利用率의 차이에 기인한 것으로 이에 대한 자세한 연구가 필요하리라 사료된다.

생쥐의 脾臟細胞로부터 IgE 생성에 있어서 IL-4의 효과에 대하여는 IL-4의 처리에 의해 용량의존적으로 IgE의 생성량이 증가하였다(Fig 1). 특히 10 U/ml 이상의 IL-4 농도에서 IgE 생성을 현저히 자극했다. 또한 Coffman 등³²⁾은 LPS에 의해 활성화된 B세포는 IL-4의 부가로 IgE 생성이 증가됨을 보고했다. 따라서 저자는 IgE 생성에 있어서 LPS와 IL-4의 효과를 실험했다. 생쥐의 脾臟細胞에 LPS와 IL-4를 동시에 처리했을 때 IgE 생성량은 IL-4 단독 처리시보다 더욱 증가하였다(Fig 2). IL-4는 BSF-1(B cell stimulatory factor-1) 또는 BCGF-1(Bcell growth factor-1)으로 불리우며, 항원으로 자극한 B임파구에 나타나는 수용체와 결합해서 세포 cycle을 G₀에서 G₁로 이행한다. 이렇게 해서 세포는 대형화 되고 MHC class II 항원의 발현이 증가된다. 또한 IL-4는 활성화된 B임파구에 작용해서 IgG1, IgE의 생성을 촉진하여 T임파구와 肥脾細胞上的 수용체와도 결합해서 증식을 촉진한다. 또한, LPS는 항원수용체의 특이성과 무관하게 대부분의 B임파구를 다클론성으로 활성화해서 증식시킨다. 다클론성 B임파구 clone이 활성화되어 증식기로 들어가서 항체를 분비하게 된다. 이러한 결과는 IL-4와 LPS가 I형 과민반응에서 중요한 역할을 하는 IgE 생성을 촉진하는 것을 증명하는 실험적 근거가 되리라 사료된다.

생쥐의 脾臟細胞에서 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4의 동시 처리에 의한 고농도의 IgE 생성시 枳實水浸液의 효과에 관한 실험은 각각의 모든

조건에서 IgE 생성을 현저히 억제했다(Fig3).

이러한 연구결과에서 枳實水浸液이 IL-4와 LPS로 동시 처리한 생쥐의 脾臟細胞에서 IgE의 생성을 현저히 억제한 결과는 枳實水浸液이 IL-4와 LPS로 자극된 B cell에서 IgE의 생성을 억제하는 기전에 관여할 것으로 사료된다.

枳實水浸液이 생쥐 脾臟細胞의 증식에 미치는 영향은 LPS의 존재하에서는 7日 동안 脾臟細胞의 배양으로 세포수가 약간 증가하였으나, LPS 단독 혹은 IL-4의 존재하에서 枳實水浸液의 처리에 의해 세포수에는 영향을 미치지 못하였다(Fig 4).

마지막으로 枳實水浸液이 인간 B세포주의 자극에 의한 IgE생성량에 미치는 영향을 실험했다. 枳實水浸液은 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4를 처리한 인간 B세포주에서도 모두 IgE생성을 현저히 억제시켰다(Fig5). 이와 같은 결과는 枳實水浸液이 인체에서도 B세포로부터 IgE 생성을 억제할 수 있는 것을 의미한다.

본 연구에서 저자는 枳實水浸液이 생쥐 脾臟細胞 및 인간 B세포주에서 IgE 생성을 용량의존적으로 억제시키는 것을 증명했다. 본 연구의 결과는 枳實水浸液이 B세포로부터 IgE 생성을 억제하여 혈청내 IgE 항체량의 감소에 의한 알레르기 반응의 억제 활성을 가지고 있는 것을 의미한다. IgE 의존성 즉시형 알레르기 반응은 肥脾細胞 및 호염기구 표면에 존재하는 IgE 수용체(FcεRI)에 IgE 항체 및 다가항원의 자극으로 수용체가 응집된 다음 고유의 신호전달 과정을 경유하여 일어난다. 따라서 생체내에서 枳實水浸液에 의한 알레르기 반응을 일으키는 표적세포에 결합할 수 있는 IgE 항체 생성자체의 억제는 이상적인 알레르기질환 치료 및 예방제로 임상활용 가치가 높다고 하겠다. 枳實水浸液은 인간 B세포주에서도 효과적이었기 때문에 생체내 mucosal immune system에서도 유사한 생리적 역할을 할 것이 예상된다. 지속적인 연구에 의해 枳實水浸液에 의한

B세포는 물론 T세포등과 관련한 IgE 생성 억제 기작 규명이 필요하다. B세포는 LPS 혹은 CD40L에 의해 다클론적으로 자극되거나 IL-4의 존재하에서 IgE class switching이 일어난다.⁴⁶⁾ 또한 IL-4를 결손한 변이동물을 이용한 연구에서 CD40 혹은 CD40L이 IgE로의 isotype switching에 결정적인 역할을 하는 것은 의심할 바 없다.⁴⁷⁻⁴⁹⁾ 따라서 IgE 생성을 유도하는 다양한 경로에서 枳實水浸液에 의한 IgE 생성 조절 기작의 상세한 연구에 의해 다양하고 복잡한 알레르기성 질환에 임상응용이 가능할 것으로 사료된다.

이상의 결과는 喘息, 알레르기 등에 사용되는 枳實이 I형 알레르기 질환에 활용될 수 있는 실험적 근거가 되며, 앞으로 알레르기 질환의 치료를 위한 활용법이 계속 연구되어야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

저자는 임상적으로 항알레르기 효과가 인정되고 있는 枳實의 효능을 생쥐 脾臟細胞 및 인간 B세포주를 이용하여 IgE 생성에 미치는 영향을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 능동적으로 면역한 생쥐에 枳實水浸液을 경구투여했을 때 혈청내 IgE 수준을 현저히 감소시켰다.

2. 능동적으로 면역한 생쥐에 枳實水浸液을 복강내 주사 투여했을 때는 경구투여시 보다 혈청내 IgE 수준을 더욱 현저히 감소시켰다.

3. 생쥐 脾臟細胞로 부터 IgE의 생성은 IL-4 용량의존적으로 증가하며 LPS와 동시 처리했을 때는 더욱 증가하였다.

4. 枳實水浸液은 생쥐 脾臟細胞에 LPS 단독 혹은 LPS와 IL-4 동시 처리에 의한 IgE 생성량을 현저히 감소시켰다. 이때 枳實水浸液은 세포수의 변화에는 영향을 미치지 않았다.

5. 枳實水浸液은 인간 B세포주에서도 IgE 생성을 억제했다.

이상과 같은 枳實水浸液의 IgE 생성 억제 능력은 최초로 밝혀진 중요한 사실로서 지속적인 연구에 의해 다양하고 난치성인 알레르기 질환 치료에 효율적으로 활용될 수 있을 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 金最壽 : 標準本草學, 서울, 進明出版社, pp. 340-341, 1975.
2. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp. 383-384, 1986.
3. 申佶求 : 申氏本草學(各論), 서울, 壽文社, pp. 724-725, 1988.
4. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.229-230, 1986.
5. 吳晉 : 神農本草經(卷二), 서울, 翰林社, p.22, 1976.
6. 陳存仁 : 圖說韓方醫學大辭典, 東京, 講談社, pp.206-207, 1982.
7. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館香港分館, pp.353-355, 1983.
8. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.1188-1189, 1973.
9. 趙公尙 : 中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, pp.226-227, 1978.
10. 王浴生 : 中藥藥理와 應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.736-739, 1983.
11. 金昌謙 : 本草從新, 서울, 杏林書院, pp.130-131, 1972.
12. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, pp.136, 270, 1989.
13. 高學敏 : 中藥學, 北京, 中國醫藥科技出版社, p.181, 1990.2
14. 陸昌洙의 4인 : 韓藥學II: 서울, 光明醫學社,

- pp.566-568, 1992.
15. Huang KC : The Pharmacology of Chinese Herbs, London, CRS Press, p.108, 1994.
 16. 高木敬次郎 外 3인 : 和漢藥物學, 東京, 南山堂, pp.236-237, 1982.
 17. 육창수의 5인 : 韓藥의 藥理, 成分, 臨床應用: 서울, 癸丑文化社, pp.568-569, 1982.
 18. 劉壽山 : 中藥研究文獻摘要, 北京, 科學出版社, pp.546-548, 1979.
 19. 陳奇 : 中藥藥理研究方法, 北京, 人民衛生出版社, pp.473-474, 1993.
 20. 문화방송 : 한국민간요법대전, 서울, 불후문고, p. 314, 1992.
 21. 朱泓玄 : 枳實에 依한 아나필락시의 抑制效果, 익산, 圓光大大學院, 1995.
 22. 黃光鎬 : 卽時型 알레르기 反應에 있어서 枳實 물抽出液의 抑制作用機轉, 익산, 圓光大大學院, 1995.
 23. 丁奎萬 : 알레르기과 韓方, 서울, 第一路, pp. 15-17, 59, 1990.
 24. 서울대학교의과대학 : 면역학, 서울대학교출판부, pp.165, 167- 169, 229, 234-241, 1994.
 25. 하대유 : 그림으로 본 면역학, 서울, 高文社, pp.279-286, 1992.
 26. 정헌택 : 免疫學入門, 서울, 高文社, pp.315-342, 1988.
 27. Stevens, R. L. and Austin, K. F. : Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells. Immunol. Today 10, 381, 1989
 28. Spry, C. J. F., Kay, A. B. and Gleich, G. G. : Eosinophils Immunol. Today 13, 384, 1992
 29. Wuthrich, B. : Epidemiology of the allergic diseases: are they really on the increase, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 90, 1989
 30. 김우경 外 : 최근 서울지역에서의 아토피의 증가 현상: 알레르기 15:304-310, 1995
 31. Ohmori, H., Hikida, M. and Takai, T. : Prostaglandin E2 as a selective stimulator of antigen-specific IgE response in murine lymphocytes. Eur. J. Immunol. 20, 2499, 1990
 32. 巢元方 : 諸病源候論, 臺中, 昭人出版社, pp. 18-20, 1974.
 33. 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, pp.260-265, 1994.
 34. 吳贊鎬 : 新免疫學 入門, 서울, 지구문화사, pp.250-253, 1995.
 35. Roitt IM : 로이트 필수면역학, 서울, 高文社, pp. 227-230, 1991.
 36. 康秉秀 : 韓方臨床알레르기, 서울, 成輔社, pp. 57-59, 1988.
 37. Snapper, C. M., Finkelman, F. D. and Paul, W. E. : Differential regulation of IgG1 and IgE synthesis by interleukin 4. J. Exp. Med. 167, 183, 1988
 38. Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Geidlin, M. A. and Coffman, R. L. : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J. Immunol. 136, 2348, 1986
 39. Plant, M., Pierce, J. H., Watson, C. J., Hanley-Hyde, J., Nordan, R. P. and Paul, W. E. : Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of Fcε RI or to calcium ionophores. Nature 339, 150, 1989
 40. Noelle, R. J. and Snow, E. C. : Cognate interactions between helper T cells and B cells. Immunol. Today 11, 361, 1990
 41. Hikida, M., Takai, T. and Ohmori, H. : Requirements of a costimulus for IL-4-

- induced IgE class switching in murine B cells activated via antigen receptors. *J. Immunol.* 156, 2730, 1990
42. Coflman, R. L., Ohara, J., Bond, M., Carty, J., Zlotnik, A. and Paul, W. E. : B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J. Immunol.* 14, 559, 1986
43. 安德均 : 現代本草, 서울, 高文社, p.458, 1975.
44. 대한약사한약연구회 : 韓藥學, 서울, 동신원색정판사, p.310, 1991.
45. 陸昌洙 : 原色韓國藥用植物圖鑑, 서울, 아카데미서적, p.321, 1989.
46. Callard, R. E., Armitage, R. J., Fanslow, W. C. and Spriggs, M. K. : CD40 ligand and its role in X-linked hyper-IgM syndrome. *Immunol. Today* 14, 559, 1993
47. Kühn, R., Rajewsky, K. and Muller, W. : Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. *Science* 254, 707, 1991
48. Kawabe, T., Naka, T., Yoshida, K., Tanaka, T., Fujiwara, H., Suematsu, S., Yoshida, N., Kishimoto, T. and Kikutani, H. (1994) The immune responses in CD40-deficient mice: impaired immunoglobulin class switching and germinal center formation. *Immunity* 1, 167.
49. Xu, J., Foy, T. M., Laman, J. D., Elliott, E. A. Dunn, J. J., Waldschmidt, T. J., Elsemore, J., Noelle, R. J. and Flavell, R. A. : Mice deficient for the CD40 ligand. *Immunity* 1, 423, 1994